Beitrag zur experimentellen Untersuchung der Ursache der Gesundheitsschädlichkeit hefetrüber Biere.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doctorwürde

in der

Medicin, Chirurgie und Geburtshilfe,

welche

nebst beigefügten Thesen

mit Zustimmung der Hohen Medicinischen Facultät

der Königlichen Universität zu Greifswald

am

Dienstag, dem 14. Oktober 1890,

Nachmittags 2 Uhr

öffentlich vertheidigen wird

Rudolf Schwanhaeuser

prakt. Arzt

aus Wilhelmshaven, Hannover.

Opponenten:

Herr cand. med. Eduard Fangmeier.
Herr cand. med. Alexander Villaret.
Herr cand. med. Oscar Brandt.

Greifswald.
Druck von Julius Abel.
1890.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40153715_0148

Seinen theuren Eltern

in Liebe und Dankbarkeit.

Man hat schon vielfach die Beobachtung gemacht, dass nach dem Genuss hefetrüber Biere beim Menschen Magenkatarrhe, Durchfälle und schwere Störungen des Allgemeinbefindens aufgetreten sind.

Diese Thatsache ist schon seit langer Zeit bekannt; als Ursache für die Erkrankung wurde die Gegenwart von Hefe angeführt. Der Beweis hierfür steht aber noch aus.

Die mir zugängliche Litteratur über durch hefetrübes Bier oder Hefen verursachte Erkrankungen gebe ich im folgenden wieder, wie sie von Dr. N. P. Simanowsky im Archiv für Hygiene von Pettenkofer, Bd. 4. angegeben wird.

E. Strauss berichtet in Virchow's Archiv Bd. 30, 1864 über zahlreiche Erkrankungen durch gährendes Bier, dem ein bedeutendes Quantum frischer Hefe zugesetzt war. Die dadurch verursachten Krankheitssymptome waren Diarrhöe, Erbrechen, verbunden mit beträchtlicher Temperatursteigerung und heftigem Schweiss — bei einigen Coma — jedoch waren nach einem Tage die Krankheitssymptome wieder verschwunden.

Grohe berichtet, dass nach Einführung einiger Formen niederer Organismen im Darmkanal Pilzknoten

aufgetreten seien „Injectionen von Hefe ins Blut und in das Peritoneum wirken noch vielgewaltiger und rascher tödtlich; bei Einbringung ins Blut erfolgte der Tod schon nach wenigen Stunden. Das Blut, namentlich aber der Inhalt des Coecums etc. zeigte exquisit saure Reaction und in letzterem fand sich stets eine starke Gasentwicklung vor. Ausserdem zeigten die Tiere, bei denen Hefe ins Blut injicirt worden war, eine länger dauernde Widerstandsfähigkeit gegen die Fäulnis".

(Berliner klinische Wochenschrift 1870, Nr. 1).

Ebenso berichtet Burkhardt, Berliner klinische Wochenschrift.

Popoff berichtet in derselben Zeitschrift, 1872 Nr. 43, dass bei Hunden nach Einfuhr grösserer Mengen Hefe, die unter der Nahrung gereicht wurde, katarrhalische Magen- und Darmzustände bedeutend an Intensität zugenommen hätten. Er schreibt den Hefeelementen ferner eine specifische Wirkung auf den Organismus zu. Das folgert er aus dem folgenden: Hunde, denen die Hefe in grosser Menge in das Blutgefässsystem injicirt worden sei, seien akut erkrankt und nach spätestens 22 Stunden eingegangen. Popoff sieht die Erkrankung als septische Intoxication an. Es sei dabei hauptsächlich der Intestinaltractus erkrankt; das Darmepithel hätte sich abgelöst und Haemorrhagien wären aufgetreten analog der durch septische Intoxication hervorgerufenen Gastroenteritis haemorrhagica. (v. Bergmann). Injectionen

mit etwas geringeren Quantitäten wären dieselben Erscheinungen in geringerer Intensität gefolgt.

Es träte Temperatursteigernng ein; diese bliebe entweder bis kurz vor dem Tode oder sie fiele nach 2—3 Tagen bis zur Norm. Es könne Genesung eintreten oder der Tod erfolgte am 3. 6. oder 9. Tage.

Das Krankheitsbild erinnere an Abdominaltyphus.

Subcutane Injectionen ergaben keine nennenswerten Krankheitserscheinungen.

Gegen die Annahme, dass die Hefe die Ursache der Erkrankung sei, macht sich Popoff zwei Einwände:

1) Fäulnis- oder Gärungsprodukte wären die Ursache der aufgetretenen Krankheitserscheinungen gewesen.

Injectionen mit den Gärungsprodukten hätten sich jedoch als ungefährlich erwiesen. — Auch Fäulnisprodukte seien es nicht gewesen, denn an der angewandten Hefe wäre nie eine Spur von Fäulnis bemerkt worden.

2) Die aufgetretenen Krankheitssymptome beruhten auf der Verstopfung der lumina der kleinsten Gefässe.

Injectionen mit Stärke, Mehl und Kohlenpulver erwiesen, dass, wenn auch grössere Quantitäten als wie bei der Hefeinjection genommen wären, die aufgetretenen Erscheinungen an In- und Extensität der Hefeinjection nachstünden.

Popoff kommt also in folge dessen zu dem

Schluss: es muss eine besondere, specifische Wirkung der Hefeelemente auf den thierischen Organismus zugegeben werden, die den Fäulnisprozessen sehr nahe steht.

Zugegeben nun, dass keine merkbaren Fäulnisproducte vorhanden waren, so muss doch erst bewiesen werden, dass überhaupt Fäulnis- bezw. Infectionserreger fehlten oder dass Hefe fäulnishemmend wirkt. Simanowsky spricht sich in seiner Arbeit (s. u.) dafür aus.

Es dürfte sich daher empfehlen, die Versuche von Popoff mit Hefereinculturen zu wiederholen.

Die angewendete Hefe war Presshefe. Diese ist nie vollständig rein; sie enthält noch andere Hefeformen oder Pilze (Mycoderma aceti, Oïdium lactis) [cf. König, Nahrungsmittel] und Bacterien.

Eine specifische Wirkung der Hefe ist also nach Popoff warscheinlich; da er jedoch immerhin mit unreinen Kulturen seine Versuche anstellte, so frägt es sich auch noch, ob allen Hefearten, oder ob gewissen ganz bestimmten Hefearten, die eben die Verunreinigung gebildet haben, eine specifische Wirkung zukommt.

Forster sagt in Pettenkofer und Ziemssen, Handbuch der Hygiene 1. Teil, 1. Abt. Seite 229: Der Genuss sehr junger und nicht genügend vergorener oder nicht fertiger Weine und Biere führt leicht zu Störungen von Seite des Verdauungscanales und auch zu anderen Erscheinungen, deren Ursache in der reichlichen Gegenwart der Hefepilze oder in dem Gehalte

an Stoffen liege, welche nach vollendeter Gärung oder beim Lagern sich allmählig umändern, teilweise unlöslich und damit ausgeschieden werden. So führt Lintner im Lehrbuch der Bierbrauerei, Braunschweig 1877, z. B. den reicheren Gehalt an Hopfenharzen im Jung- (Grün-, Kraus-) Biere als die warscheinliche Ursache dafür an, dass dessen Genuss nicht selten krankhafte Erscheinungen von Seiten der Blase, Blasenkrampf, erzeugt.

Dr. N. P. Simanowsky hat in Pettenkofers Archiv für Hygiene Bd. 4 Untersuchungen über die Gesundheitsschädlichkeit hefetrüber Biere veröffentlicht. Er selbst und zwei andere Personen genossen hefetrübes Bier und er beobachtete darauf die auftretenden Erscheinungen.

Dr. S. war an Biergenuss nicht gewöhnt. Nach 6tägigem Genuss von $^1/_2$ L. guten Bieres entstand bei ihm eine Magenstörung unter den Symptomen von Appetitlosigkeit, ein Gefühl von Belästigung in der Magengegend, missmutige Stimmung; Symptome, die nach dreitägiger Enthaltsamkeit von Bier rasch zurückgingen.

Beim mehrmaligen Genuss von hefetrübem Bier hätte sich ein heftiger Magenkatarrh eingestellt, der auch nach Aussetzen des Bieres noch 3 Wochen fortbestanden hätte. Fortwährende Appetitlosigkeit, Meteorismus, Gefühl der Völle, das sich bei einer ganz geringen Nahrungsaufnahme sofort bedeutend steigerte, starkes Herzklopfen mit Arythmie und

Nachts Schlaflosigkeit hätten ihn auf das Unangenehmste belästigt.

Seine Aufmerksamkeit ward daher auf die Hefe als schädlichen Bierbestandteil gelenkt. Ein besonderer Versuch hätte dann auch gezeigt, dass älteres gutes Bier durch Hefezusatz vollkommen die schädlichen Eigenschaften des jungen trüben Bieres erhielt.

Die zweite Versuchsperson, ein an Biertrinken gewöhnter Bayer, der täglich 1 1/2—2 L. trank, hätte keine Spur einer Störung beim Genuss guten Bieres gezeigt. Beim Genusse des hefetrüben sei alsbald ein Magenkatarrh und ab und zu Durchfall aufgetreten. Vom 4. Versuchstage sei der Appetit schlecht geworden; es sei unter Entwicklung eines Schweregefühls in der Magengegend zum vollständigen Abscheu gegen die Speisen gekommen. Nach Aussetzen des Versuches bis zur Erholung der Versuchsperson hätten sich nach erneutem Genuss des hefetrüben Bieres dieselben Erscheinungen wieder eingestellt.

Auch bei der dritten Versuchsperson, die an den Genuss bedeutender Bier- und Schnapsmengen gewöhnt war, sei nach fortgesetztem Genuss hefetrüben Bieres ein heftiger Magendarmkatarrh aufgetreten.

Bei allen untersuchten Menschen verhielte sich die Wirkung des hefehaltigen Bieres ganz gleich, stets führe der Genuss früher oder später zu einem Magenkatarrh mit Darmsymptomen, welche Störungen nur langsam in Genesung übergegangen seien. — Hierzu

führt er an, dass nach Dr. Anbry ganz junges Bier (10—12 Tage nach der Hauptgärung) von den Brauknechten in Menge getrunken wird, und zwar stets ohne Schaden, wenn sich die Hefe klar abgesetzt habe, was schlagend für die Bedeutung der Hefe spräche.

Dr. S. fand weiterhin in seinen Versuchen, dass die Anwesenheit der Hefezellen die Vermehrung der Fäulnisbacterien verhindere. Er glaubt, dass hiervon ein von den Hefen produzirter Stoff (Alkohol?) die Ursache sei.

Die Hefe, die er verwandte, war feste Presshefe und halbflüssige Bierhefe aus dem Münchner Hofbräuhaus. — Es ist jedoch nicht unwarscheinlich, dass die Fäulnis nur durch die saure Reaction der Nährflüssigkeit gehemmt worden ist.

Ferner fand Dr. S., dass Hefe vom normalen Magensaft nicht angegriffen wird und erklärt daraus die Hartnäckigkeit der durch Hefe bedingten gastrischen Störungen. Bei Magenkatarrhen besonders, wo nach Leube der Zucker sehr lange im Magen bleibe, finde die Ansiedlung von Hefepilzen günstige Bedingungen. Dann habe Frerichs in gärenden, erbrochenen Massen zuerst die Hefepilze nachgewiesen, Leube spräche von der beständigen Anwesenheit von Hefezellen im dilatirten Magen, ebenso Naunyn, der wohl mit vollem Rechte den Hefezellen im dilatirten Magen eine wichtige Rolle in der Aetiologie der Magendilatation und der chronisch-katarrhalischen Zu-

stände des Magens zuschreibe. (Naunyn, über das Verhältnis der Magengärungen zur mechanischen Insufficienz, Archiv für klinische Medizin 1881).

Die Arbeit von Dr. Simanowsky benachwortet Pettenkofer: „Unbedingt hefetrübe Biere seien im Stande, schon in kurzer Zeit und bei mässigem Genusse ziemlich schwere Magenkatarrhe hervorzurufen; damit sei aber noch nicht die Berechtigung zu dem Schlusse gegeben, dass Hefe und speciell hefetrübe Biere stets diese Verdauungsstörung im Gefolge haben müssten. Gegen diese Verallgemeinerung spräche die Erfahrung, dass zu gewissen Zeiten und in gewissen Gegenden Hefe in grosser Menge ohne jede nachteilige Wirkung genossen würde. (Weissbier, Lichtenhainer, Ziegenhainer). Wohl jeder habe einmal ohne jeden Schaden gelegentlich untergäriges, hefetrübes Bier getrunken. Erinnerte er ferner an den enormen Hefegehalt des in grossen Mengen getrunkenen gärenden Weinmostes und zum Schlusse an die von Herrn Dr. Simanowsky selbst citirten Beispiele von Verabreichung der Hefe als Medicament (ibid. Seite 2) so könne er sich der Einsicht nicht verschliessen, dass noch gewisse Nebenbedingungen erfüllt sein müssen, um ein hefetrübes Bier gesundheitsschädlich zu machen.

Dr. Simanowsky hätte fast ausschliesslich sehr junge, wenig vergorene, maltosereiche Biere zu seinen Versuchen verwendet; er hätte also mit der Hefe gleich eine besonders für die Vermehrung derselben geeignete Nährlösung in den Magen eingeführt. —

Ein ausreichend vergorenes hefehaltiges Bier wirke vielleicht weniger schädlich. Ebenso hätte sich Herr Director Dr. Aubry ausgesprochen.

Eine zweite Möglichkeit wäre, dass nur gewisse Hefespecies pathogen seien, die im trüben Bier bald vorhanden seien, bald fehlten.

Wie verschiedene Hefearten die Würze verschieden vergärten, so könnten sie auch verschieden auf den menschlichen Körper einwirken. Culturversuche aus verschiedenen trüben Bieren und Versuche an Menschen und Thieren mit verschiedenen reingezüchteten Hefearten müssten diese Frage entscheiden.

Endlich liesse sich noch als dritte Möglichkeit denken, dass die Hefe als solche an dem ganzen Krankheitsbilde höchstens secundär beteiligt sei, dass gewisse pathogene Spaltpilzarten, die im hefetrüben Bier auftreten könnten, die wahre Ursache der Gesundheitsschädlichkeit in diesen Fällen darstellten. — — — Unschädliche hefetrübe Biere kämen vor, seien aber nicht sicher zu erkennen.“ — — — — —

Ich habe im Vorstehenden die über die pathogenen Eigenschaften der Hefe gemachten Versuche und Beobachtungen, so weit sie mir bekannt waren, kurz zusammengestellt.

Pettenkofer hat die Gesichtspuncte genau präcisirt, nach welchen die Frage entschieden werden muss, welche Ursachen gewisse hefetrübe Biere gesundheitsschädlich machen.

Es giebt also erstens hefetrübe Biere, die un-

schädlich sind. Es muss nun untersucht werden, welche Organismen diese Trübung bewirken und es müssen die entsprechenden Versuche am Menschen angestellt werden.

Zweitens: Es giebt hefetrübe Biere, die schädlich sind; welche Organismen bewirken hier die Trübung oder sind überhaupt in dem Biere vorhanden? Mit diesen müssen wiederum die erforderlichen Versuche angestellt werden. Ferner: gehören hierzu auch die unzureichend vergorenen Biere?

Schliesslich muss ich noch die von Forster (s. o.) angegebene Möglichkeit betonen, dass nach vollendeter Gärung oder beim Lagern einige Stoffe im Bier sich allmählig umändern, teilweise unlöslich und damit ausgeschieden werden. Es mag dies spontan geschehen; es ist aber auch möglich, dass dieses auf eine Verunreinigung mit Microorganismen zurückgeführt werden muss, wie es z. B. beim Flaschenbier vorkommen kann, da die Flaschen häufig unrein sind oder mit verunreinigtem Wasser gereinigt werden.

Die verschiedenen Hefearten vergären Würze verschieden. Ihre Gärungsproducte sind daher warscheinlich auch verschieden. Wenn dieses nachgewiesen wird, so müssen mit den verschiedenen Producten Untersuchungen angestellt werden, ob sie pathogen wirken können.

Speciell scheinen Untersuchungen über die Gärungsproducte der sogenannten fremden oder

wilden Hefen, welche Hefetrübung hervorrufen oder das Bier bitter machen, zu fehlen.

Nach dem Dargelegten erfordert die Frage nach der Gesundheitsschädlichkeit gewisser hefetrüber Biere eine umfassende experimentelle Bearbeitung.

Zunächst müssen in möglichst zahlreichen Fällen, in welchen nach dem Genuss derartiger Biere Krankheitserscheinungen sicher constatirt sind, mit Hilfe der bakteriologischen Methoden die in diesen Bieren enthaltenen Organismen isolirt und dann mit den Reinculturen Versuche am Menschen angestellt werden.

Im Juli dieses Jahres bot sich eine erwünschte Gelegenheit, derartige Versuche zu beginnen.

Es wurde dem hygienischen Institut eine Flasche von einem Bier übergeben, nach dessen Genuss eine Dame unter den oben geschilderten Symptomen lebhafter Verdauungsstörungen erkrankt war.

Dieses Bier, ein dunkles extractreiches Bier, zeigte an der Oberfläche in der Flasche Hautbildung und einen deutlichen Bodensatz. Die Untersuchung ergab, dass sowohl der Bodensatz wie auch die Haut aus Hefezellen von verschiedener Form bestand. Bacterien konnten mit Hilfe von Fleischwasserpeptongelatineplatten in dem Bier nicht nachgewiesen werden. — Mit Hilfe des Plattenculturverfahrens wurden auf Pflaumengelatine 2 Hefearten isolirt, welche scharf von einander unterschieden werden konnten. Die eine derselben erwies sich bei weiterer Untersuchung als Saccharomyces cerevisiae, die andere als eine fremde

Hefeart. Letztere schien mit dem Saccharomyces Pastorianus III Hansen übereinzustimmen.

Es wurde mir nun die Aufgabe gestellt, diese Hefearten näher zu untersuchen und im Besonderen festzustellen, ob dieselbe pathogen wirke, d. h. die Ursache der Krankheitserscheinungen gewesen sei. Gleichzeitig sollten Versuche mit Saccharomyces cerevisiae angestellt werden, um dessen Schädlich- bezw. Unschädlichkeit ebenfalls zu erweisen.

Die Saccharomycesarten, welche das Bier trübe machen, sind nach Hansen der S. Pastorianus III. und und der S. ellipsoideus II.

Dass die mir übergebene Hefe wirklich der S. Pastorianus III war, kann ich nicht stricte beweisen; es wird aber dadurch wahrscheinlich, dass seine Formen den von Hansen angeführten Abbildungen entsprechen, und dass er etwa nach 9 Tagen bei Zimmertemperatur auf Bierwürze eine Haut bildet.

Ehe ich die Versuche begann, kam es darauf an, möglichst viele differentiell-diagnostische Merkmale zwischen Sacch. cer. und der fremden Hefeart festzustellen. Letztere nenne ich von jetzt ab Sacch. Past.; ich betone aber nochmals, dass dieses nur warscheinlich ist. Es handelt sich für mich in erster Linie darum, ob diese fremde Hefenart pathogen ist.

Die Kriterien, welche die einzelnen Saccharomycesarten von einander unterscheiden, sollen in der verschiedenartigen Bildung, im verschiedenartigen mikroskopischen und makroskopischen Aussehen der

Häute bei den verschiedenen Temperaturen, in der Beobachtung der Grenzen der Hautbildung, also der Sprossungsgrenze und schliesslich in der Beobachtung der Zeitgrenzen für die Ascosporenbildung bestehen. (Jörgensen, Gärungsindustrie 1886.) Die Form, das Grössenverhältnis und das Aussehen der Zelle kann nach Hansen an und für sich nicht hinreichen, um Artencharaktere abgeben zu können.

Für die vorliegenden Hefearten gelang es nun, durch das Kochsche Plattenculturverfahren, andere sichere Unterscheidungsmerkmale zu finden.

Es wurde beobachtet, dass der Sacch. Pastor. III. nach etwa 10 Tagen Pflaumengelatine verflüssigte; der Sacch. cerevis. that dieses nicht.

Das war also der erste culturelle Unterschied. Es wurden nun auf allen tauglichen Nährsubstraten Plattenculturen des Sacch. cerev. und des Sacch. Past. III. angelegt, in der Weise, dass eine Platinoese der zu cultivirenden Hefeart in wenige ccm sterilisirten Wassers gebracht wurde; das Wasser wurde dann tüchtig geschüttelt, um die Hefezellen möglichst darin zu verteilen und aus diesem Wasser wurden 3 Platinoesen in das Nährsubstrat gebracht und von diesem Original aus in vorschriftsmässiger Weise die Verdünnungen hergestellt.

Als Nährsubstrate wurden benutzt; 10% Fleischwasserpepton-, nicht gehopfte Bierwürze- und Pflaumengelatine.

Am 21. 8. wurden nun diese Platten angelegt.

Schon am 23. 8. waren Kolonien sichtbar. Der Schale, in welcher die mit Sacch. cer. beimpften Bierwürzeplatten aufbewahrt wurden, entströmte ein wundervoller weiniger Geruch. Die Schale, in welcher die mit Sacch. past. beimpften Bierwürzeplatten aufbewahrt wurden, gewährte dagegen einen Geruch nach Käse bezw. verdorbenem Leim. — Kolonien waren sichtbar.

In dem verschiedenartigen Geruch auf den Nährböden liegt also ein weiterer Unterschied zwischen dem Sacch. Pastor. III. und S. cerev.

Auf den Nährgelatineplatten war der Sacch. cer. etwas gewachsen, der Sacch. Past. nicht.

Hier fehlte der unterscheidende Geruch.

Auf der Pflaumengelatine war der Sacch. cerev. gut, der Sacch. Pastor. vorzüglich gewachsen; ein Unterschied in den Kolonien war noch nicht zu bemerken. Auch hier zeigte sich der unterscheidende Geruch.

Erst am 28. 8. zeigte sich ein deutlicher Unterschied zwischen den Kolonien der beiden Hefearten.

Die Nährgelatine zeigte nur ein sehr geringes Wachstum der Kolonien; sie wurde daher ausgeschaltet.

Der Unterschied zwischen den Kolonien trat am besten auf der Bierwürzegelatine hervor. Nach 14 Tagen war der Unterschied ganz unverkennbar.

Darnach zeigt die Kolonie des Sacch. cerev. ein weisses, feuchtglänzendes Aussehen; es waren die-

selben über das Nährsubstrat hervorgewölbt. Sie wachsen über die Oberfläche daumen- oder zeigefingerartig in die Höhe, soweit die Kolonien auf der Oberfläche liegen. In einer Höhe von 2—3 mm neigt sich die Spitze; sie biegt sich bisweilen auf die Oberfläche des Nährbodens zurück, so dass ein Bogen entsteht.

Der Sacch. Past. breitet sich det Fläche nach aus, zeigt überhaupt kein Dickenwachstum; die Kolonie sieht trocken und mehr grauweiss aus. Sie ist kreisrund; in der Mitte erhebt sich eine kleine Kuppe; nach dem Rande zu fällt sie, manchmal treppenförmig, allmählig ab und sieht am Rande durchscheinend grau aus.

Das mikroskopische Bild ergiebt von den an der Oberfläche liegenden Kolonien, dass der Rand der Sacch. cerev. Kolonie scharf abgesetzt, fast glatt ist, während der Rand der Sacch. Past.-Kolonie kurze körnige Vorsprünge zeigt.

Die mikroskopische Untersuchung der verschieden gestalteten Kolonien beider Arten ergab, dass die sie bildenden Zellen ebenfalls constant verschieden waren.

Die Zellen des Sacch. cerev. waren im Allgemeinen grösser, länger und breiter wie die des Sacch. Past. Im Übrigen zeigten sie in der Form grosse Ähnlichkeit.

Von diesen Kolonien wurden wieder Platten ausgegossen; immer erschien dasselbe Bild.

Von beiden Arten von Kolonien wurde sterilisirte Bierwürze beimpft. Es ergab sich, dass die mit der einen Art beimpfte Bierwürze kräftige alcoholische Gärung zeigte, während die andere Würzecultur nicht die geringste Gärung erkennen liess, wohl aber nach 9 Tagen eine Haut auf der Oberfläche darbot.

Durch das vorhergehende Schütteln in sterilisirtem Wasser werden die Hefezellen so von einandergelöst, dass die meisten Kolonien nur als von einer Zelle ausgegangen erachtet werden können.

Da ich nun ein sicheres Charakteristikum für diese zwei Hefearten hatte, so vermischte ich in sterelisirtem Wasser eine Spur von Sacch. cerev. und Sacch. Past. und goss davon Platten aus. Ich wollte damit die Probe anstellen, ob aus Gemischen eine Reinzüchtung beider Hefearten leicht und sicher erfolgen kann. Dies geschah am 3. 9. Am 11. 9. trat schon der charakteristische Unterschied in den Kolonien an der Oberfläche hervor, so dass eine Reinzüchtung erfolgen konnte. — Am 20. 9. beobachtete ich auch einen Unterschied in den im Innern der Gelatine gelegenen Kolonien.

Die Kolonie des Sacch. cerev. zeigte im Innern der Gelatine einen scharf abgesetzten Rand, ohne dass Hefezellen am Rande hervortraten; der Sacch. Past. gewährte das Aussehen einer platzenden Bombe; am Rande der Kolonie zeigten sich einzelne Zellen, an einer Stelle — eben dort, wo die Bombe, wenn wir

den Vergleich beibehalten wollen, platzt — zeigte sich eine Unzahl radienartig zerstreuter Hefezellen.

Jetzt am 8. 10. gewähren diese Kolonien ein Bild, als wenn von einem Punkte Flammen ausstrahlen; die Kolonie des Sacch. cerev. ist unverändert, nur etwas grösser geworden.

In Pflaumengelatine habe ich derartige Beobachtungen nicht gemacht; wohl aber, dass hier nach etwa 14 Tagen ein Einsinken der Sacch. Pastor.-Kolonien und zwar von der Mitte der Kolonie aus, eintrat. Bei manchen war sogar die Kuppe verschwunden.

Nachdem ich mir so sichere Reinculturen des Sacch. cerev. und Pastor. erzielt hatte, übertrug ich dieselben auf folgende schräg erstarrte Substrate, um zu sehen, ob auch bei der Strichcultur Differenzen zu Tage treten.

Ich benutzte 10% Fleischwasserpeptongelatine, 1% Fleishwasserpeptonagar mit 1% Traubenzucker, 1,5% Würze-Agar und 10% Würzegelatine, ferner 10% Pflaumengelatine.

Auf Nährgelatine wächst der Sacch. Pastor. äusserst schlecht, der Sacch. cerev. langsam, immerhin aber schlecht. Abgesehen von den bereits erwähnten geringen Intensitätsunterschieden im Wachstum, zeigt die Strichcultur auf der Nährgelatine keine makroskopischen Unterschiede.

Auf 1% Traubenzuckeragar wachsen beide Arten

gleich gut, ohne einen Unterschied zu zeigen. Auch der Geruch bietet hier kein Unterscheidungsmerkmal.

Auf Würzeagar zeigt sich ein bedeutender Unterschied. Abgesehen von dem Geruch sieht die Kultur des Sacch. cerev. feucht, dick, schmutzig grauweiss aus, während der Sacch. Pastor. flach, trocken wächst und ein helleres Grauweiss zeigt.

Auf Würzegalatine zeigte sich der am besten zu verwertende Unterschied.

Die Strichcultur des Sacch-cerev. sieht weiss aus und zeigt bedeutendes Dickenwachstum, die des Sacch. Pastor. breitet sich in der Fläche aus, ist trocken und sieht grauweiss aus.

Auf Plaumengelatine breitet sich der Sacch. Pastor. intensiv in der Fläche aus, nach 10—14 Tagen verflüssigt er die Gelatine.

Der Sacch. cerev. wächst darauf schlechter, sein Dickenwachstum ist hier viel geringer, als auf Würzgelatine; er verflüssigt die Gelatine nicht.

Auf der gekochten Kartoffel gezüchtet zeigen sich gleichfalls Unterschiede im Dickenwachstum und in der Farbe.

Der Sacch. cerev. ist mehr weisslich und dicker, der Sacch. Pastor. grauweiss und flach.

Das microskopische Bild der Hefezellen ist hier auffallend verschieden.

Die Zellen des Sacch. cer. sind gross, kugelig oder oval; sie enthalten im Innern 7—8 Körnchen,

die zum Teil in den Vacuolen in lebhaft tanzender Bewegung begriffen sind.

Die Zellen des Sacch. Pastor. sind kleiner, meist wurstförmig. Sie enthielten entweder nur ein Körnchen im Innern einer Vacuole tanzend, oder 2—3 an den Polen der Zelle, sich gegenüberliegend.

Es wurde ferner untersucht, welcher Säuregrad den Kulturen der einzelnen Hefearten am förderlichsten ist. Auch auf alkalischem Nährboden wurden Kulturversuche gemacht. Es wurden Reagensröhrchen, die 5 ccm. neutralisirte 10% Bierwürzegelatine enthielten*) durch Zusatz von Tropfen einer 2% Alkalilösung (1 Na O H + 1 KOH : 100 ccm. H_2O) stufenweise alkalisirt und zwar wurde eine 0,5 % und 0,25 % Nährlösung hergestellt.

Dabei stellte sich heraus, dass der Sacch. Past. den Alkaligehalt schlechter verträgt als der Sacch, cerev. Bei 0,5 % Alkaligehalt fand kein ausgesprochenes Wachstum des Sacch. Pastor. statt; das Wachstum des Sacch. cerev. war etwas besser. Der characteristische Unterschied zwischen beiden wird auf diesen alkalischen Nährböden verwischt.

Am besten zu unterscheiden waren die Hefearten auf neutralisirter Bierwürzegelatine. Der Sacch. Past. breitet sich, ohne irgend ein Dickenwachstum zu zeigen, zu beiden Seiten des Impfstrichs aus; der Sacch. cerev.

*) Die neutralisirte Bierwürze-Gelatine, welche ja in grossen Mengen zu beschaffen ist, giebt im Uebrigen einen ganz brauchbaren Nährboden ab für verschiedene pathogene Bacterien, wie z. B. Milzbrand-, Typhus- und Cholerabacterien.

wächst nur wenig über den Impfstrich hinaus und hauptsächlich in die Höhe, mehr als auf den sauren Nährböden. Der Rand erscheint fein gekerbt. Der Geruch zeigt den bekannten Unterschied.

Die Acidität der Nährlösungen wurde durch tropfenweisen Zusatz von einer 20 % Acidum tartaricum-Lösung hergestellt. Es wurde hergestellt: 0,5 %, 1 %, 1,5 %, 2 %. 2,5 %, 3 % saure Nährlösung. Von 1,5 % an wurden 15 % Würze-Gelatine verwendet, da dieselbe sonst nicht zum Erstarren gebracht werden konnte, und auch bei diesem Zusatz von Gelatine konnte dieselbe bei 2,5 % Säurelösung kaum schräg zum Erstarren gebracht werden, die Galatine sammelte sich am Boden des Gefässes.

Bei 0,5 % nimmt das Dickenwachstum des Sacch. cerev. etwas ab, bei 1 % noch mehr; es tritt kräftige Gärung ein. Bei 1,5 % und 2 % treten nur vereinzelte Gasbläschen in der Gelatine auf. Bei 1,5 % zeigt er kein Dickenwachstum mehr, sondern der Impfstrich senkt sich schwach in die Gelatine ein. Bei 2,5 % und 3 % wird das Wachstum gehemmt.

Der Sacch. Pastor. verhält sich ähnlich. — Bei 0,5 %, 1 %,, 1,5 % breitet sich der Sacch. Pastor. immer mehr in die Fläche aus. Selbst bei 2 % Säure wächst er noch kräftig; er kann mithin höhere Säuregrade vertragen, als der Sacch. cerev.

Auch mit Phosphorsäure wurde die neutrale Bierwürzegelatine angesäuert. Es wurden 2, 4 und 6 Tropfen der officinellen Phosphorsäure zu 5 ccm.

zugesetzt, was etwa einem Säuregrade von 0,4 %, 0,8 %, 1,2 % entspricht.

Bei 0,8 % scheint der Sacch. cerev. am heftigsten zu vergähren. — Der Sacch. Pastor. zeigt hier ein gewisses Dickenwachstum, er dehnt sich aber auch in der Fläche aus; auch ihm scheint ein Säuregrad von ungefähr 1 % am dienlichsten zu sein.

2 Röhrchen von 5 ccm neutraler Peptonbouillon wurden mit 2 Tropfen H_3PO_4 am 16./9. versetzt; schon nach 4 Tagen erschien auf dem mit Sacch. Pastor. beschickten Röhrchen eine Haut. Auf dem mit Sacch. cerev. beschickten Röhrchen ist bis jetzt (9./10.) noch keine Haut erschienen. Auch wurde in Milch, namentlich in schwach angesäuerter, ein besseres Wachstum des Sacch. Pastor. constatirt.

Es scheint also, dass der Säuregrad die Hautbildung beeinflusst.

Die normale Bierwürze reagirt sauer. Die Kulturen auf damit angefertigter Gelatine entsprechen fast genau denjenigen auf 0,5% weinsaurer Bierwürzegelatine.

Schliesslich wurde noch constatirt, dass der Sacch. Pastor. auch mit Phosphorsäure oder Acid. tartar. angesäuerter Fleischwasserpeptongelatine besser wächst, als der Sacch. cerev., welcher auf derselben bei diesen Zusätzen kaum noch wächst.

Auch Kulturen in H Atmosphäre auf 1% weinsaurer Bierwürzegelatine wurden angelegt. Das Wachstum beider Arten ist dabei nicht merklich alterirt.

Die Gärung tritt beim Sacch. cerev. unbehindert ein, während der Sacch. pastor. wie überhaupt, so auch hier keine Gärungserscheinungen erkennen lässt.

Fasse ich das Resultat der Kulturversuche zusammen, so ist für den Sacch. cerevis. und Pastor. eine 1% saure Bierwürzegelatine am günstigsten; letzterer wächst auch auf bedeutend saurerem, zuckerärmeren und eiweissreicheren Nährböden.

Zur culturellen Differential-Diagnose empfiehlt sich am meisten neutralisirte Bierwürzegelatine.

Die Form und das Aussehen der Hefezellen ist kein sicheres Unterscheidungsmerkmal. Die Zellen des Sacch. Past. sind durchweg kleiner, als die des Sacch. cerev. Die Formen der Zellen sind aber häufig vollkommen gleich und daher Täuschungen leicht möglich.

Die Färbungsmethoden ergeben auch keinen characteristischen Unterschied zwischen den beiden Arten.

Beide färben sich nach Gram. Tuberkelbacillenfärbung nehmen sie nicht an.

Mit schwacher, wässriger Methylenblaulösung färben sich die Zellen schwach blau; ebenso giebt es mit wässriger Malachitgrünlösung deutliche Bilder.

Mit conc. alcoholischer Fuchsinlösung und 1% Essigsäure $\overline{aa}$ färben sich die Kerne in den Zellen. — Bei Anwendung der Sporenfärbungsmethode von Neisser färben sich einzelne Teile in den Zellen rot, andere blau.

Nachdem ich nun auf dem vorher beschriebenen

Wege zu Reinculturen gelangt war, hatte ich die Wirkung der verschiedenen Arten auf lebende Organismen zu prüfen.

Ich teile die Versuche hier mit, bemerke aber dabei, dass die Versuche weder nach der einen noch nach der anderen Richtung bis jetzt etwas Positives zu Tage gefördert haben.

Am 27. 8. stellte ich in Schälchen, in welche ich Bierwürze-Gelatine, -Agar, Pflaumen-Gelatine und -Agar ausgoss, 36 Massenculturen des Sacch. Past. und cerev. her.

Ferner setzte ich mehrere Erlenmeyersche Kölbchen Bierwürze mit Sacch. Pastor. und cerev. an. Am 3. 9. bemerkte man den Anfang einer Hautbildung auf den mit Sacch. Past. beschickten Kölbchen.

Von den Gelatineculturen wurden nun im ganzen 6 Mäuse mit Sacch. Past. und 6 Mäuse mit Sacch. cerevis. subcutan in einer Hauttasche mit einer grossen Platinöse des Materiales geimpft. Keine derselben erkrankte. Ebenso wenig erkrankte ein Meerschweinchen nach subcutaner Beibringung einer reichlichen Menge von Sach. Past.

2 junge Katzen wurden mit je 3 Brodstückchen gefüttert, in welche einige Platinösen von Sacch. Past. von einer festen Cultur gebracht waren. Die Katzen wurden in einen engen Behälter, 60 ccm lang, 50 ccm breit, 50 ccm hoch, gesperrt und zeigten am 2. Tage heftigen Durchfall. Es wurden 2 weitere Katzen mit je 3 Fleischstückchen, mit Sacch. Past.

beschickt, gefüttert; dieselben wurden in einen grösseren Behälter gesperrt. Sie bekamen keinen Durchfall. Es schien daher, dass nur der enge Behälter bei den beiden ersten Katzen das geschilderte Resultat hatte und so war es auch. Dieselben Katzen wurden, ohne mit Sacch. Past. gefüttert zu sein, nachdem sie wiederhergestellt waren, noch einmal in den Behälter gesperrt und zeigten nach 2 Tagen dasselbe Resultat. Der Sacch. Pastor. hatte also die Diarrhöen nicht erzeugt.

Es wurden nun 3 Mäuse mit den 18 Massenculturen des Sacch. Pastor. und 3 andere mit den 18 des Sacch. cer. gefüttert. Weissbrodstücke wurden nass gemacht und die ganze Oberfläche desselben mit den Kulturen bestrichen. Nach ca. 3 wöchentlicher Verfütterung musste der Versuch als resultatlos aufgegeben werden.

Einem Kaninchen, einem Meerschweinchen und einer Katze wurden je 100 ccm von Würzeculturen des Sacch. Past. vom 27. 8. am 12. 9. in den Magen injicirt. Es zeigte sich keine Reaction.

Nun stellten wir die Versuche in grösserem Massstabe am Menschen an.

Ich selbst trank zuerst am 10. 9. etwa 20 ccm einer Würzecultur des Sacch. Past. vom 27. 8. und verspürte keine Reaction.

Am 27. 9. Abends 7 Uhr wurden 21 Flaschen Eldenaer Bier mit je 2 ccm der gut umgeschüttelten Bierwürzeculturen des Sacch. Past. vom 27. 8. ver-

sehen; ebenso am 28. Vormittags 12 Flaschen mit 2 ccm Sacch. cerev. in Bierwürze.

In alle Flaschen wurde dann noch eine grosse Platinöse von den Culturen auf festen Nährböden gebracht.

4 Flaschen blieben ohne Zusatz.

Sämmtliche Flaschen wurden bei Zimmertemperatur aufbewahrt.

Das mit Sacch. Past. beschickte Bier war sofort trübe; am 29. 9. zeigte sich auf allen Flaschen der Anfang einer Hautbildung, am 30. war die Haut vollständig. Am Boden zeigte sich ein Bodensatz.

Die mit Sacch. cerev. beimpften Flaschen wurden kurze Zeit nach dem Zusatz wieder klar. Es zeigte am 29. 9. ein weisser Bodensatz von Hefe; in manchen stiegen kleine Gasbläschen auf; sämmtlich aber waren sie klar und so zeigten sie sich während der ganzen des Versuches.

Am 30. 9. wurden die Versuche begonnen.

Die Versuchspersonen C und D sind nicht an Biergenuss gewöhnt; die übrigen an mässigen Biergenuss.

A. trank 11 Uhr Vormittags 2 Flaschen Bier mit Sacch. Pastor. und will Kollern im Leibe am Nachmittag bemerkt haben.

B. trank ebenfalls 2 Flaschen; will Beschleunigung des Stuhles bemerkt haben.

Am Nachmittag tranken C. und D. je 2 Flaschen Bier mit Sacch. Pastor. ohne Reaction zu bemerken.

Sämmtliche Flaschen wurden vorher gut umgeschüttelt.

Der Geschmack des Bieres war nicht sonderlich verändert; es schmeckte nicht so frisch, etwas schaler, aber nicht unangenehm.

C. und F. tranken am 1./10. Vormittags je 2 Flaschen, A. eine Flasche, ohne Reaction davon zu bemerken.

G. am 2./10 Vormittags 2 Flaschen; will vermehrten Stuhlgang gehabt haben.

B. und C. Abends 7 Uhr je 3 Flaschen. Nachher genossen sie kein Bier mehr; auch sie verspürten keine Reaction.

Am 4./10 11 Uhr Vormittags tranken B., F., G. je 2 Flaschen des mit Sacch. cerev. versetzten Bieres. Das Bier wurde gut umgeschüttelt. Am Geschmack desselben war nichts Auffälliges zu bemerken.

G. will darauf wieder eine Beschleunigung im Stuhlgang gemerkt haben. Bei B. und F. trat keine Wirkung ein.

Am Abend 7 Uhr tranken C. und D. je 3 Flaschen von dem mit Sacch. cerev. versetzten Biere. D. bekam Durchfall; er hatte nachher ein Gericht Kohl gegessen. Bei C. zeigte sich Nichts.

Ebenso war es bei B., der die noch übrigen 2 Flaschen des mit Sacch. cerev. versetzten Bieres trank.

Der Geschmack des Controlbieres war von dem des mit Sacch. cerev. versetztem nicht zu unterscheiden.

Wie wohl die angestellten Versuche bisher ein negatives Resultat ergeben haben, so lässt sich aus denselben noch nicht schliessen, dass der Sacch. Past. in keinem Falle eine schädliche Wirkung hervorrufen könne.

Erstens können zu geringe Hefemengen verwandt sein und zweitens scheint es erforderlich zu sein, dass ein und dieselbe Versuchsperson das mit den Hefearten versetzte Bier längere Zeit geniesst, was bei der Kürze der mir zu Gebote stehenden Zeit nicht mehr durchführbar war.

Auch wäre es denkbar, dass empfindliche Personen anders reagirten, als die im Alter von 25 bis 30 Jahren stehenden männlichen Versuchspersonen.

Die Versuche werden nun in dieser Hinsicht im Hygienischen Institut zu Greifswald festgesetzt.

Die verschiedenen im Biere auftretenden Organismen sollen gezüchtet und damit Versuche angestellt werden.

In den letzten Tagen ist es mir gelungen, aus einem sehr trüben, mit Kahmhaut versehenen Biere einen hefeartigen Organismus zu isoliren, welcher wiederum in ganz characteristischer Weise auf Bierwürzegelatine wächst.

Auch dieser soll zu den Versuchen herangezogen werden.

Am Schlusse meiner Arbeit statte ich meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. Löffler für seine freundliche Unterweisung und Belehrung bei Anfertigung vorliegender Arbeit meinen herzlichen Dank ab.

Lebenslauf.

Rudolf Emil Albert Schwanhaeuser, evang. Confession, Sohn des Zimmermeisters Rudolf Schwanhaeuser und seiner Ehefrau Katharine, geb. Siecke, wurde geboren zu Wilhelmshaven, Landrostei Aurich, Provinz Hannover.

Er besuchte die Gymnasien zu Oldenburg, Jever und Emden. Auf den Universitäten Berlin und Greifswald studirte er Medizin. Im Beginn des Sommersemesters 1890 beendete er das medizinische Staatsexamen und bestand das Examen rigorosum.

Seine akademischen Lehrer waren:

In Berlin:

du Bois-Reymond, Christiani †, Friedrich Müller, R. Hartmann, Krabbe, Sell, Franz Eilhard Schulze, Tschirch, H. Virchow, R. Virchow, Waldeyer, Julius Wolff.

In Greifswald:

Grawitz, Helferich, Krabler, Löbker, Löffler, Mosler, Peiper, Pernice, v. Preuschen, Rinne, Schirmer, Schulz, Strübing.

Allen diesen seinen hochverehrten Lehrern spricht Verfasser an dieser Stelle ehrerbietigst seinen pflichtschuldigen Dank aus.

Thesen.

I.

Durch das Koch'sche Plattenculturverfahren ist es möglich, zu Reinculturen des Saech. cer. zu gelangen.

II.

Mietswohnungen sollten vor ihrer Benutzung desinficirt, mindestens aber die Fussböden mit 1 $^0/_{00}$ Sublimatlösung gescheuert werden.

III.

Die Ursache der Gesundheitsschädlichkeit hefetrüber Biere ist noch nicht genau bekannt.